

**BIOREMEDIASI PENCEMARAN MINYAK di SEDIMEN PANTAI BALONGAN, INDRAMAYU
dengan MENGGUNAKAN BAKTERI *Alcanivorax sp. TE-9* SKALA LABORATORIUM**
*Bioremediation of Oil Pollution in Coastal Sediments Balongan, Indramayu by Using Bacteria
Alcanivorax sp. TE-9 Scale Laboratory***UMROH**

Crude oil pollution in the sediments of Balongan, Indramayu are harmful to marine ecosystems. Thus it is necessary to ameliorate with bioremediation method using bacteria. The aim of this research is to know its degradation level by *Alcanivorax sp. TE-9* and they may reveal the effectiveness of *Alcanivorax sp. TE-9* bacteria to degrade the crude oil. Research method was in the *batch culture* system. Crude oil was measured using gravimetric method and oil concentration was measured using GC/MS performed for four weeks. The result of this research show that in the 28 days of analysis show oil were degraded by *Alcanivorax sp. TE-9* whereas 52.923% crude oil and control 20.04%. Bacterial growth and degradation of the oil producing trend along. Bacteria that have the highest growth, will also produce high levels of degraded oil. This indicates the oil has been exploited as a source of carbon to produce energy and growth of bacteria

Keyword : *Crude oil, bioremediation, bacteria, Alcanivorax sp. TE-9*

PENDAHULUAN

Pencemaran minyak di pesisir merupakan kasus yang sangat membahayakan, karena dapat menimbulkan efek buruk sedimen, biota dan habitat di sekitarnya, seperti pada tumpahan minyak di Balongan Indramayu yang terjadi pada bulan September 2008. Pencemaran minyak di sedimen Perairan Balongan dikarenakan adanya kebocoran pipa pengangkut minyak mentah. Oleh karena itu dilakukan uji laboratorium sebagai upaya penanganan dalam menurunkan konsentrasi minyak di dalam sedimen, yaitu dengan metode bioremediasi. Salah satu cara bioremediasi yang dilakukan adalah dengan teknik bioaugmentasi (penambahan bakteri). Penggunaan bakteri dalam mendegradasi minyak dianggap aman, murah dan mudah. Teknik bioremediasi yaitu pemanfaatan mikroorganisme perombak polutan untuk mengurangi lingkungan yang tercemar (Sudrajat, 1996 dalam Hatmanti dan Darmayati, 2009). Teknologi bioremediasi dengan mikroorganisme cukup potensial untuk diterapkan di Indonesia mengingat kondisi iklim dan keanekaragaman mikroorganismenya, karena Indonesia merupakan daerah tropis dengan sinar matahari dan kelembaban tinggi yang sangat mendukung percepatan proses pertumbuhan mikroba untuk aktif mendegradasi minyak (Udiharto, 1996).

Berdasarkan penelitian salah satu bakteri yang berpotensi dalam meremediasi minyak adalah *Alcanivorax sp. TE-9* (Darmayati, 2009b; Hatmanti dan Darmayati, 2009). Isolasi dan pengujian kemampuan

bakteri dalam mendegradasi minyak telah banyak dilakukan pada ekosistem tanah darat, akan tetapi pengujian bakteri dalam mendegradasi minyak masih jarang dilakukan di sedimen laut, khususnya bakteri dari ekosistem laut itu sendiri. Berdasarkan hal tersebut, maka dalam penelitian ini dilakukan pengujian bakteri dari ekosistem laut dalam mendegradasi minyak. Bakteri laut yang digunakan dalam meremediasi minyak adalah *Alcanivorax sp. TE-9*, yang merupakan bakteri dari laut dan akan digunakan sebagai uji coba meremediasi pencemaran minyak di ekosistem laut itu sendiri.

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri *Alcanivorax sp. TE-9* mampu mendegradasi pencemaran minyak di sedimen laut dengan kondisi berbeda dengan sedimen darat.

Tujuan Penelitian. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui kemampuan bakteri *Alcanivorax sp. TE-9* dalam mendegradasi minyak yang berasal dari sedimen Pantai Balongan, Indramayu.

METODE

Penelitian ini merupakan kegiatan uji coba di laboratorium. Bakteri yang digunakan dalam perlakuan degradasi minyak adalah *Alcanivorax sp. TE-9*. Perlakuan bakteri yang diuji cobakan untuk mendegradasi minyak adalah dalam skala tabung (50 ml) dengan sistem sekali unduh atau *batch culture*. Penggunaan bakteri *Alcanivorax sp. TE-9*

sebagai inokulan dalam uji coba degradasi minyak. Bakteri *Alcanivorax sp. TE-9* sudah diketahui kemampuannya dalam mendegradasi minyak dari sedimen Pulau Pari. Berdasarkan hal tersebut, diharapkan selain mampu mendegradasi minyak di Pulau Pari, juga mampu mendegradasi pencemaran minyak dari sedimen dengan kondisi berbeda, seperti sedimen di Pantai Balongan, Indramayu.

Waktu Penelitian. Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari - April 2010, bertempat di Laboratorium Mikrobiologi Laut, Puslit Oseanografi LIPI-Ancol, Jakarta.

Bahan dan Alat. Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah berupa sampel sedimen dan air dari perairan Balongan, Indramayu yang diambil pada bulan Maret 2010 dan dicampur dengan koleksi sedimen Pertamina UP VI Balongan yang diambil sejak bulan September 2008 dari Perairan Balongan saat terjadi tumpahan minyak di Balongan, Indramayu. Bahan lain yang akan digunakan dalam penelitian adalah isolat bakteri *Alcanivorax sp. TE-9* dari koleksi isolat laboratorium mikrobiologi, Puslit Oseanografi LIPI-Ancol dan bahan media pertumbuhan bakteri menggunakan *marine agar*.

Periode Pengamatan. Periode pengukuran biodegradasi minyak seiring dengan pengukuran laju pertumbuhan bakteri dan parameter lingkungan yaitu pada hari ke-0, ke-7, ke-14 dan 28. Waktu pengukuran biodegradasi minyak dilakukan pada hari ke-0, ke-7, ke-14 dan 28 karena disesuaikan dengan pola peningkatan pertumbuhan sel bakteri dan pola penurunan konsentrasi minyak pada penelitian sebelumnya (Darmayati *et al.* 2008; Darmayati, 2009a).

Prosedur Penelitian. Penelitian terdiri dari dua tahap, yaitu tahap persiapan dan pelaksanaan penelitian.

Persiapan Penelitian

Sterilisasi Alat. Sterilisasi alat-alat seperti tabung, pipet volumetric, cawan porselen dan cawan petri dicuci dengan air tydol dan selanjutnya dibilas dengan akuades. Peralatan dikeringkan terlebih dahulu, kemudian

dibungkus dengan kertas, sedangkan tabung reaksi ditutup dengan kapas dan aluminium foil. Semua alat-alat gelas yang siap, dimasukkan kedalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

Persiapan Sedimen dan Air. Titik pengambilan sampel dilakukan secara random dengan mengambil 5 titik. Sedimen diambil menggunakan *push core*, selanjutnya sampel sedimen disimpan dalam tabung plastik (*nalgen*) yang telah disterilisasi. Sampel air diambil secara manual dengan menggunakan botol kaca. Sampel sedimen dan air dimasukkan dalam *cool box* selama perjalanan dari lapangan menuju laboratorium. Sampel sedimen dari Pantai Balongan dibersihkan dari kotoran dan serasah. Selanjutnya sedimen dicampur dengan koleksi sedimen dari Pertamina UP VI Balongan dan dihomogenkan untuk memperoleh konsentrasi minyak yang tinggi.

Persiapan Isolat. Isolat bakteri *Alcanivorax sp. TE-9* diambil dari koleksi laboratorium mikrobiologi, P2O-LIPI-Ancol. Isolat bakteri diperbanyak (kultur) dengan metode goresan (*streak*) pada medium *marine agar* yang terdapat dalam cawan petri kemudian diinkubasi selama 3 hari dalam inkubator pada suhu 30°C untuk mendapatkan inokulum bakteri. Selanjutnya bakteri dipanen menggunakan larutan salin (NaCl) sebanyak 5-8 ml ditetaskan secara bertahap di atas medium *marine agar* yang telah ditumbuhi bakteri, diratakan menggunakan batang *driglasky* untuk mempermudah lepasnya sel dari medium. Larutan salin yang mengandung sel bakteri dipisahkan dari medium menggunakan pipet mikro dan ditampung dalam tabung baru, seperti pada **Gambar 1**. Selanjutnya dilakukan pengukuran kerapatan sel bakteri menggunakan spektrofotometer Amersham Ultrospec 3100 pro. Pengukuran *Optical density* (OD) dilakukan dengan panjang gelombang (λ) optimum pada tiap strain. *Optical density* (OD) 0.8 atau kepadatan 10^8 sel bakteri per ml digunakan sebagai patokan karena berdasarkan uji coba pendahuluan, jumlah sel bakteri optimum yang untuk mendegradasi minyak adalah 10^8 sel/ml (Darmayati *et al.* 2008).



Gambar 1. Tahapan perbanyakan (kultur) isolat bakteri *Alcanivorax sp. TE-9*

Pelaksanaan Penelitian**Pengukuran Konsentrasi Minyak.**

Pengukuran konsentrasi minyak dengan metode EPA (1996) dimodifikasi Darmayati (2010) yaitu seluruh sampel dalam tabung *falcon* setelah diinkubasi, kemudian ditambahkan larutan DCM:Hexane = 1:1 sebanyak 5 ml. Selanjutnya sampel dikocok selama 30 menit secara manual untuk melarutkan minyak yang terdapat di dalam sampel sedimen dan air (Penambahan DCM:Hexane dan pengocokan diulang sebanyak 4 kali tahapan dan disentrifuse untuk memisahkan minyak dan DCM:Hexane. Setelah disentrifuse 5 menit, maka terjadi pemisahan larutan, yang terdapat pada lapisan atas (hasil dari pemisahan) yaitu minyak dan larutan DCM:Hexane diambil dan dimasukkan ke dalam tabung yang berisi 3 gram Na_2SO_4 . Larutan yang ada di dalam tabung berisi Na_2SO_4 kemudian didiamkan selama 24 jam untuk menghilangkan kandungan air yang terbawa dalam larutan dan minyak. Selanjutnya larutan diambil menggunakan pipet *pasteur* dan dituang kedalam cawan porselen untuk selanjutnya diuapkan 1x48 jam. Cawan porselen sebelumnya sudah diketahui berat kosongnya. Kemudian cawan porselen ditimbang dengan timbangan analitik (Sartorius BP 210S) untuk mengetahui berat minyak mentah. Konsentrasi minyak dihitung dengan menggunakan rumus berdasarkan Pagoray (2009):

$$\text{Konsentrasi minyak (ppm)} = \frac{(x - y)}{\text{gram}} \quad \text{.....(1)}$$

Keterangan :

- x = berat cawan + minyak (μg)
y = berat cawan kosong (gr)

Persentase Degradasi minyak. Residu minyak pada waktu pengukuran hari ke-0, 7, 14 dan 28 tersebut digunakan untuk menentukan kemampuan bakteri dalam mendegradasi minyak yang ada dalam sampel sedimen + air. Persentase degradasi minyak ditentukan dengan menggunakan rumus berdasarkan Bishnoi *et al.* (2008) :

$$\% \text{ Degradasi minyak} = \frac{(S_0 - S_t)}{S_0} \times 100\% \quad \text{..... (2)}$$

Keterangan :

- S_0 = konsentrasi awal
 S_t = konsentrasi setelah waktu tertentu

Laju Degradasi Minyak. Laju degradasi diperoleh dari nilai konstanta hasil degradasi minyak oleh aktivitas bakteri yang diplotkan terhadap waktu inkubasi. Setelah memperoleh nilai konstanta, kemudian digunakan untuk mengetahui konsentrasi minyak pada saat pengukuran. Laju degradasi minyak dihitung berdasarkan rumus Horan (1990) dalam Notodarmojo (2005) :

$$N_t = N_0 \cdot e^{-kt} \quad \text{.....(3)}$$

atau

$$\ln N_t = -kt + \ln N_0 \quad \text{.....(4)}$$

Keterangan :

- N_0 = konsentrasi awal
 N_t = konsentrasi pada saat pengukuran
k = konstanta
t = waktu

Pertumbuhan Bakteri . Penghitungan total sel bakteri dengan metode *direct count* berdasarkan Hobbie *et al.* (1977) yaitu pengamatan menggunakan mikroskop *epifluorescence* dan pengecatan bakteri dengan larutan *Acridine Orange*. Sampel dari tabung percobaan diambil 0.1 ml dan dimasukkan ke dalam 0.9 ml air laut steril, kemudian dikocok. Selanjutnya sebanyak 0.1 ml dimasukkan ke dalam 1.145 ml *Acridin Orange* dan dikocok. Setelah homogen, campuran sampel dengan larutan *Acridine Orange* disaring dengan filter polikarbonat yang sudah direndam larutan *sudan black* semalam dan sudah dibilas akuades steril. Filter diletakkan di gelas benda yang sudah ditetesi minyak imersi, kemudian ditutup dengan *cover glass*. Pengamatan dilakukan dengan mikroskop *epifluorescence* perbesaran 1000 kali. Perhitungan sel dilakukan pada 10 bidang pandang. Sel yang hidup tampak hijau dan sel yang mati berwarna orange. Total sel bakteri dihitung berdasarkan rumus Hobbie *et al.* (1977) sebagai berikut:

Total sel bakteri dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Total sel} = \frac{n \left(\frac{V_1 + V_2}{V_2} \right) \times L^2 \times 0,785}{V_3 \times A} \quad \text{..... (5)}$$

Keterangan:

- n = rata-rata penghitungan sel bakteri
 V_1 = volume larutan AODC (ml)
 V_2 = volume sampel dalam larutan AODC (ml)
 V_3 = volume larutan sampel yang disaring (ml)
L = diameter filter polikarbonat (20 mm)

A = luas bidang pandang mikroskop
(0.015386 mm²)

Parameter Lingkungan. Waktu pengukuran parameter lingkungan dilakukan seiring dengan pengukuran konsentrasi minyak dan pertumbuhan bakteri yaitu pada hari ke-0, ke-7, ke-14 dan ke-28. Parameter lingkungan yang diukur yaitu pH, suhu, salinitas dan oksigen terlarut. Pengukuran pH dilakukan dengan alat pHmeter, sedangkan pengukuran salinitas dengan refraktometer.

Periode pengukuran biodegradasi minyak seiring dengan pengukuran laju pertumbuhan bakteri dan parameter lingkungan yaitu pada hari ke-0, ke-7, ke-14 dan 28. Waktu pengukuran biodegradasi minyak pada hari ke-0, ke-7, ke-14 dan 28 karena disesuaikan dengan pola peningkatan pertumbuhan sel bakteri dan pola penurunan konsentrasi minyak pada penelitian sebelumnya (Darmayati *et al.* 2008; Darmayati, 2009a). Pengukuran oksigen terlarut dan suhu dilakukan dengan menggunakan alat DO meter dan sebelum

pemakaian, alat sudah terlebih dahulu dikalibrasi. Semua alat direndam ke dalam akuades kemudian dikeringkan sebelum dimasukkan ke dalam tabung *falcon* berisi media dan bakteri.

Analisis Data. Analisis data dilakukan bertujuan untuk mendapatkan informasi kuantitatif dan kualitatif dari kemampuan *Alcanivorax sp. TE-9* dalam mendegradasi minyak.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Degradasi Minyak. Berdasarkan hasil penelitian di laboratorium menunjukkan bahwa uji kemampuan bakteri *Alcanivorax sp. TE-9* selama 28 hari ternyata mampu menurunkan konsentrasi minyak lebih tinggi daripada kontrolnya. Data pengaruh penambahan bakteri terhadap degradasi minyak ditunjukkan pada **Tabel 1.**

Tabel 1. Rerata Konsentrasi Minyak pada Penambahan Bakteri *Alcanivorax sp. TE-9*

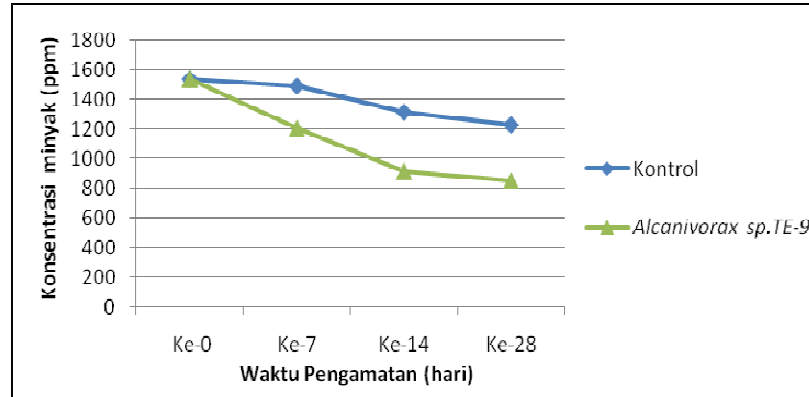
Perlakuan	Waktu Pengamatan(Hari ke-)			
	0	7	14	28
<i>Alcanivorax sp. TE-9</i>	1536.05±70.81	1202.98±54.62	913.10±66.01	848.54±96.43
Kontrol	1536.05±70.81	1489.55±46.12	1314.08±27.36	1228.17±70.55

Perlakuan penambahan bakteri *Alcanivorax sp. TE-9* dalam percobaan degradasi minyak menunjukkan respon yang berbeda dengan kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan bakteri *Alcanivorax sp. TE-9* memberikan pengaruh terhadap degradasi minyak. Perbedaan yang nyata antara perlakuan penambahan bakteri *Alcanivorax sp. TE-9* dengan kontrol dapat dikatakan bahwa bakteri *Alcanivorax sp. TE-9* tersebut mampu dalam memanfaatkan minyak sebagai sumber karbon untuk mensintesis enzim-enzim yang digunakan dalam mendegradasi senyawa-senyawa yang terkandung di dalamnya. Menurut Harayama *et al.* (1999), enzim yang dimiliki oleh bakteri pendegradasi minyak adalah oksigenase, dimana enzim tersebut berperan dalam reaksi masuknya oksigen ke dalam senyawa kimia melalui proses oksidasi, karena sebelum hidrokarbon minyak yang digunakan sebagai

sumber karbon, bakteri harus memecahnya melalui proses oksidasi.

Kemampuan bakteri *Alcanivorax sp. TE-9* dalam mendegradasi minyak juga diduga karena bakteri tersebut merupakan bakteri yang terbiasa di lingkungan tercemar minyak sehingga mampu beradaptasi dan tumbuh di sampel sedimen yang tercemar minyak. Hasil penelitian Darmayati (2009a); Kasai *et al.* (2002) menunjukkan bahwa *Bacillus sp.*, *Alcanivorax sp.* dan *Bordetella sp.* merupakan bakteri yang ditemui di perairan ketika terjadi pencemaran minyak.

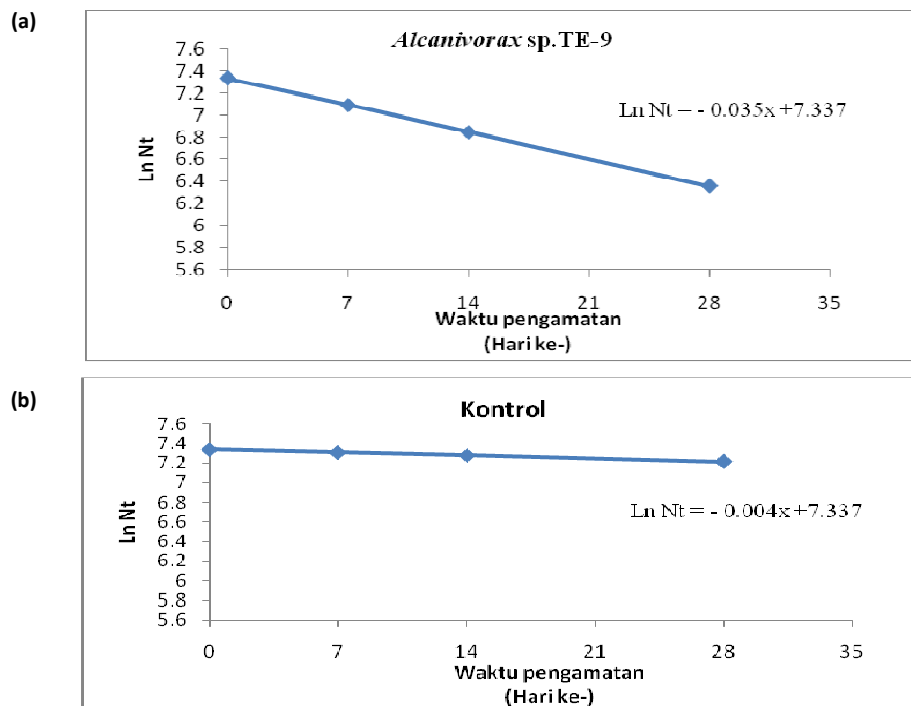
Kemampuan bakteri *Alcanivorax sp. TE-9* dalam mendegradasi minyak diperjelas dengan kurva laju degradasi minyak (**Gambar 2 dan 3**).



Gambar 2. Degradasi Minyak pada Perlakuan Penambahan Bakteri *Alcanivorax sp. TE-9* dan Kontrol

Tabel 2. Persentase Biodegradasi dan Laju Degradasi Minyak pada Media Bakteri *Alcanivorax sp. TE-9*

Perlakuan	Persentase degradasi minyak (%)	Laju degradasi (hari ⁻¹)
<i>Alcanivorax sp. TE-9</i>	44.76	0.035
Kontrol	20.04	0.004



Nt = Konsentrasi minyak

Gambar 3. Laju Degradasi Minyak Pengaruh Penambahan Bakteri: (a) *Alcanivorax sp. TE-9* dan (b) Kontrol.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa persentase degradasi minyak dan laju degradasi minyak dari bakteri *Alcanivorax sp. TE-9*. Pada perlakuan penambahan bakteri *Alcanivorax sp. TE-9* menunjukkan pertumbuhan sel sebesar 3.34×10^8 sel/ml dan mampu mendegradasi minyak sebesar 44.76%, dengan laju 0.035/hari. Kemampuan degradasi minyak oleh *Alcanivorax sp. TE-9* didukung oleh karakter *Alcanivorax sp. TE-9* yang dapat menghasilkan biosurfaktan sehingga meningkatkan kelarutan minyak dalam air. Hasil degradasi minyak dari sedimen Pantai Balongan, berbeda dengan hasil penelitian Darmayati (2009a), dimana *Alcanivorax sp. TE-9* dapat mendegradasi minyak dari sampel sedimen Pulau Pari yaitu sebesar 88.97% selama 28 hari.

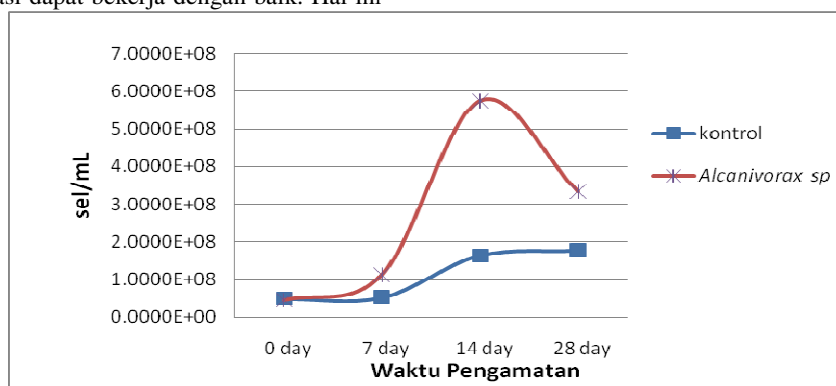
Pada kontrol juga terjadi degradasi minyak walaupun sangat kecil, yaitu sebesar 20.04% dengan laju 0.004/hari. Terjadinya degradasi pada kontrol dikarenakan sampel media yang digunakan pada penelitian adalah sedimen dan air laut yang tidak disterilisasi sehingga memungkinkan bakteri *indigenous* tetap hidup. Bakteri *indigenous* mendegradasi hidrokarbon karena bakteri tersebut mampu menghasilkan enzim pendegradasi hidrokarbon. Enzim tersebut berfungsi sebagai biokatalisator pada proses biodegradasi (Bartha and Atlas, 1987 dalam Pagoray, 2009). Penurunan konsentrasi minyak yang terjadi pada kontrol secara alami dengan laju yang lebih rendah dibandingkan perlakuan dengan penambahan bakteri.

Selain itu, proses biodegradasi juga dipengaruhi oleh faktor lingkungan, diantaranya suhu, oksigen dan pH (Udiharto, 1996). Pada penelitian ini, selama proses biodegradasi berlangsung menunjukkan nilai pH antara 7.24 - 7.85 dan pada semua perlakuan adanya sedikit penurunan pH. Penurunan pH selama biodegradasi berlangsung dikatakan masih dalam batas normal sehingga proses biodegradasi dapat bekerja dengan baik. Hal ini

didukung oleh hasil penelitian Alexander (1994) dimana pH optimum untuk proses biodegradasi hidrokarbon antara 6.0 – 8.0. Penurunan pH selama proses biodegradasi menunjukkan adanya akumulasi asam-asam organik sebagai hasil akhir metabolisme meningkat seiring dengan bertambahnya waktu inkubasi. Hal ini seperti yang diungkapkan oleh Rosenberg dan Ron (1992) bahwa penurunan pH selama biodegradasi merupakan terbentuknya produk sampingan yang bersifat asam seperti asam asetat, asam propionat sehingga menurunkan nilai pH medium.

Biomassa Bakteri. Hasil pengamatan bakteri menggunakan mikroskop *epifluoresens* dan metode pengecatan *Acridine Orange*, menunjukkan sel bakteri nampak terang dan berpendar. Bakteri yang hidup atau aktif nampak berpendar berwarna hijau dan yang mati berwarna orange. Bentuk sel yang teramati umumnya berbentuk *coccus* atau bulat dan batang pendek. Sel bakteri yang aktif akan menentukan kemampuan untuk dapat mendegradasi minyak.

Berdasarkan total sel bakteri dapat dikonstruksikan ke dalam kurva yang menunjukkan pola pertumbuhan dari bakteri *Alcanivorax sp. TE-9*. Total Sel dari bakteri merupakan jumlah keseluruhan dari bakteri, baik bakteri inokulan maupun bakteri *indigenous* yang ada di dalam sampel. Pada perlakuan penambahan bakteri *Alcanivorax sp. TE-9* menunjukkan kecenderungan peningkatan biomassa bakteri sampai hari ke-14. Peningkatan total sel tersebut terjadi karena sumber karbon masih mencukupi dan faktor lingkungan masih mendukung bagi pertumbuhan bakteri, dimana nilai pH antara 7.24 - 7.85, oksigen terlarut antara 0.16 – 2.79 mg/l, salinitas 33.5‰ dan suhu antara 27.10 - 27.60°C.



Gambar 4 Grafik Pertumbuhan Sel Bakteri pada Semua Perlakuan Selama Proses Biodegradasi

Pada awal penelitian, inokulasi bakteri pada masing-masing tabung perlakuan sebanyak 1×10^8 sel/ml. Selanjutnya setelah dilakukan pengukuran pada hari yang sama terjadi penurunan sel bakteri, yaitu pada perlakuan penambahan bakteri *Alcanivorax sp. TE-9* menjadi 4.60×10^7 sel/ml, hal ini merupakan indikasi telah terjadi kematian sel bakteri. Kematian sel bakteri pada saat awal ini merupakan fase permulaan dimana semua bakteri melakukan adaptasi dengan lingkungan. Bakteri tersebut melakukan adaptasi dengan lingkungan barunya sebelum dapat memanfaatkan minyak yang terkandung dalam sedimen sebagai sumber karbon.

Pada hari ke-7 hingga hari ke-14, perlakuan penambahan *Alcanivorax sp. TE-9* mengalami kenaikan yang menandakan adanya pertumbuhan sel. Pertumbuhan ini dikarenakan bakteri telah beradaptasi dan dapat memanfaatkan hidrokarbon sebagai sumber karbon untuk energi dan pembelahan sel bakteri. Pembelahan sel selama proses biodegradasi juga dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti pH, oksigen dan nutrisi. Pada perlakuan *Alcanivorax sp. TE-9*, pH masih dalam kondisi normal yaitu antara 7.24 – 7.85. Dragun (1998) mengatakan bahwa kondisi pH yang dapat mendukung bagi pertumbuhan bakteri antara 6 – 8. Pagoray (2009) menambahkan bahwa bakteri dapat tumbuh dan berkembang baik pada kondisi pH netral. Pada pH netral menyebabkan kerja enzim yang dihasilkan oleh bakteri menjadi maksimal dalam mendegradasi minyak.

Pada hari ke-28 semua perlakuan mengalami penurunan jumlah sel bakteri. Penurunan jumlah sel bakteri tersebut menyebabkan terhambatnya dalam degradasi minyak. Hubungan pertumbuhan bakteri dan degradasi minyak ditunjukkan pada **Gambar 5**. Penurunan sel bakteri disebabkan oleh faktor kematian yang diduga karena berkurangnya kandungan nutrisi N dan P di dalam sampel. Nitrogen merupakan unsur pokok protein yang berperan dalam pertumbuhan, perbanyakan sel dan pembentukan dinding sel. Fosfor merupakan komponen utama asam nukleat dan lemak sel membran yang berperan dalam proses pemindahan energi secara biologi, pembentukan asam amino. Unsur N dan P kebanyakan

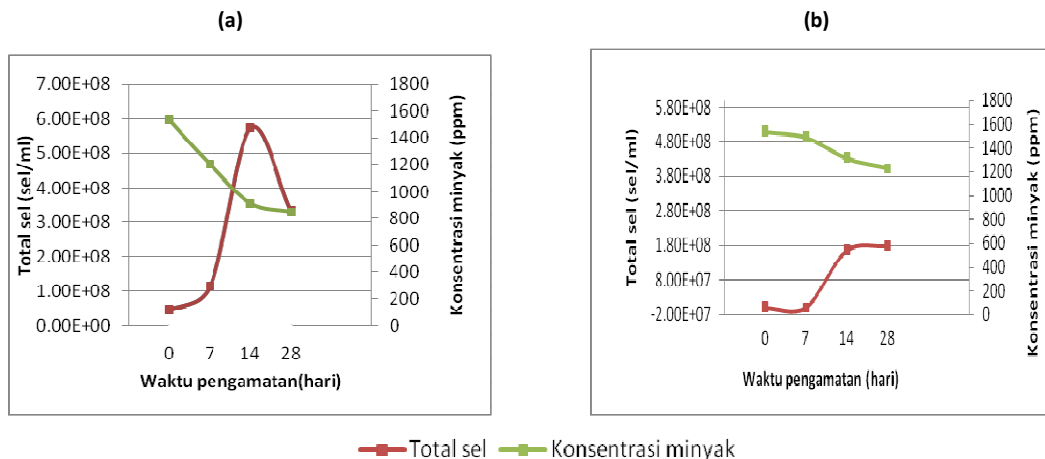
terdapat dalam pupuk (Baker and Herson, 1994).

Oleh karena itu, jika penelitian bioremediasi ini diperpanjang, maka sebaiknya diberikan penambahan pupuk secara berkala, sehingga menjaga ketersediaan N dan P. Penambahan nitrogen pada media dapat meningkatkan biodegradasi minyak sebesar 25% (Udiharto, 1992). Secara teoritis, mikroba membutuhkan minimal 150 mg nitrogen dan 30 mg fosfor untuk mendegradasi 1000 mg karbon menjadi sel baru (Rosenberg dan Ron, 1996).

Secara umum, antara pertumbuhan bakteri dan degradasi minyak menghasilkan kecenderungan seiring. Bakteri yang memiliki pertumbuhan tertinggi, juga akan menghasilkan kadar minyak yang terdegradasi tinggi. Hal ini menunjukkan telah dimanfaatkannya minyak sebagai sumber karbon untuk menghasilkan energi dan pertumbuhan bakteri.

Hubungan pertumbuhan bakteri dan penurunan konsentrasi minyak sudah terlihat pada hari ke-7. Penurunan minyak pada semua perlakuan ditunjang dengan adanya pertumbuhan sel bakteri setelah mengalami adaptasi pada awal inokulasi bakteri. Pertumbuhan bakteri yang cepat setelah bakteri mengalami masa adaptasi dikarenakan bakteri sudah dapat memanfaatkan substrat minyak sebagai sumber karbon sehingga dapat digunakan untuk pertumbuhan bakteri. Selanjutnya pertumbuhan bakteri yang meningkat berbanding terbalik dengan penurunan konsentrasi minyak (**Gambar 5**). Hal ini menunjukkan bahwa penambahan bakteri *Alcanivorax sp. TE-9* yang diuji cobakan pada penelitian, merupakan faktor yang menyebabkan penurunan konsentrasi minyak di dalam sampel sedimen.

Selama proses biodegradasi, menunjukkan penurunan minyak seiring dengan peningkatan pertumbuhan bakteri dan mencapai maksimum pada hari ke-14. Hal ini sesuai dengan pernyataan Hozumi *et al.* (2000) bahwa semakin banyak biomassa bakteri, semakin cepat minyak yang dikonsumsi oleh bakteri sebagai sumber karbon, sehingga berat residu minyak yang terukur juga semakin berkurang. Adanya penurunan minyak ini menunjukkan bahwa minyak digunakan sebagai substrat untuk pertumbuhan bakteri sebagai sumber karbon.



Gambar 5. Hubungan Degradasi Minyak dan Penambahan Bakteri pada Masing-masing Perlakuan: a) *Alcanivorax* sp. TE-9 dan b) Kontrol

Penurunan konsentrasi minyak akibat penambahan bakteri merupakan indikasi bahwa bakteri pada percobaan dapat hidup dalam minyak terkait dengan kemampuannya mensintesis enzim oksigenase. Enzim ini berfungsi untuk mengoptimalkan kontak antara minyak dengan bakteri yang akan mempercepat disimilasi senyawa aromatik dan alkanas sehingga mendukung proses biodegradasi minyak (Watkinson 1980 dalam Yugiarti 1999). Proses biodegradasi terjadi ketika mikroorganisme menempel pada permukaan butiran-butiran minyak dengan mengeluarkan enzim oksidase yang dibutuhkan untuk memecah rantai karbon yang terikat pada membran sel.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan. Konsentrasi minyak mengalami degradasi, hal ini ditandai dengan konsentrasi yang cenderung menurun dari waktu ke waktu. Perubahan ini disebabkan oleh kemampuan bakteri *Alcanivorax* sp. TE-9 dalam menggunakan minyak sebagai sumber karbon untuk mensintesis enzim oksigenase yang digunakan dalam mendegradasi minyak.

Saran. Bakteri *Alcanivorax* sp. TE-9 dapat digunakan sebagai agen bioremediasi minyak dalam penelitian lanjutan. Untuk meningkatkan proses degradasi, dalam penelitian lanjutan perlu dilakukan dengan menggunakan gabungan metode *bioaugmentasi* (penambahan bakteri) dan metode *biostimulasi* (penambahan nutrient).

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander M. 1994. *Biodegradation and Bioremediation*. Academic Press. New York.
- Baker KH, Herson DS. 1994. *Bioremediation*. Mc. Graw-Hill Inc, New York.
- Darmayati Y, Harayama S, Yamazoe A, Hatmanti A, Sulistianti, Nuchsin R, Kunarso DH. 2008. Hydrocarbonoclastic bacteria from Jakarta Bay and Seribu Islands. *Marine Research Indonesia* 1: 55-64.
- Darmayati Y. 2009a. Pemanfaatan bakteri laut dalam bioremediasi ekosistem pantai berpasir tercemar minyak: Uji coba biostimulasi, bioaugmentasi, dan kombinasinya dalam skala laboratorium dan demplot. *Laporan Akhir*. Pusat Penelitian Oseanografi – Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Jakarta.
- Darmayati Y. 2009b. Seleksi bakteri laut pendegradasi minyak dari Perairan Teluk Jakarta. Di dalam: *Seminar Nasional Perikanan Indonesia*. Jakarta, 3-4 Desember 2009.
- Darmayati Y. 2010. Bioremediation of crude oil contaminated sediment using slow release fertilizer "Hydrocarbonoclastic bacteria population dynamics". *Ilmu Kelautan* 2: 462 – 476.
- Dragun J. 1998. *The Soil Chemistry of Hazardous Materials*. 2nd Edition. Amherst Scientific Publishers, Amherst, MA.

- Harayama S, Kishira Y, Kasai Y, Shutsubo K. 1999. Petroleum Biodegradation in Marine Environments. *Journal Molecular Microbiology Biotechnology* 1: 63-70.
- Hatmanti A, Darmayati Y. 2009. Karakterisasi dan analisis kekerabatan bakteri potensial pendegradasi minyak dan poly-aromatics hydrocarbon (PAH) dari Perairan Teluk Jakarta. *Seminar Biologi Nasional*. Purwokerto, 12-13 Desember 2009.
- Hobbie JE, Daley RJ, Jasper S. 1977. Use of nucleopore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. *Applied And Environmental Microbiology* 3: 1225-1228.
- Hozumi T, Tsutsumi H, Kono M. 2000. Bioremediation on the shore after an oil spill from the Nakhodka in the sea of Japan I. Chemistry and characteristics of heavy oil loaded on the Nakhodka and biodegradation tests by a bioremediation agent with microbiological cultures in the Laboratory. *Marine Pollution Bulletin* 4: 308-314.
- Kasai Y, Kishara H, Harayama S. 2002. Bacteria belonging to the genus *Cycloclasticus* play primary role in the degradation of aromatic hydrocarbons released in a marine environment. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 5625-5633.
- Notodarmojo S. 2005. *Pencemaran Tanah dan Air Tanah*. Penerbit ITB, Bandung.
- Pagoray H. 2009. Biostimulasi dan bioaugmentation untuk bioremediasi limbah hidrokarbon serta analisis keberlanjutan. Disertasi. Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Rosenberg E, Ron EZ. 1998. *Bioremediation of Petroleum Contaminant*. In Crawford RL and Crawford DL (Eds). *Bioremediation: Principles and Applications*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Udiharto M. 1992. Aktivitas mikroba dalam mendegradasi minyak bumi. Di dalam: *Diskusi Ilmiah VII Hasil Penelitian LEMIGAS. Prosiding Pertemuan Ilmiah Tahunan*; Jakarta, 4 Februari 1992. PPPTMGB"LEMIGAS".
- Udiharto M. 1996. Bioremediasi minyak bumi. Di dalam: *Pelatihan dan Lokakarya Penerapan Bioremediasi dalam Pengelolaan Lingkungan. Prosiding Pertemuan Ilmiah Tahunan*; Cibinong, 24 – 28 Juni 1996. LIPI/BPPT/HSF.
- Yugiarti. 1999. Pengaruh nutrisi dan logam berat terhadap degradasi minyak bumi oleh biakan campuran bakteri: *Pseudomonas aeruginosa* dan *Arthrobacter simplex*. Tesis. Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.